

WELSH & KATZ, LTD.*Attorneys at Law*120 SOUTH RIVERSIDE PLAZA - 22ND FLOOR
CHICAGO, ILLINOIS 60606-3912TELEPHONE (312) 655-1500
FACSIMILE (312) 655-1501

www.welshkatz.com

Writer's E-mail
twolpin@welshkatz.com

January 28, 2005

A. SIDNEY KATZ*
 RICHARD L. WOOD*
 JEROLD B. SCHNAYER
 JOSEPH R. MARCUS
 GERALD S. SCHUR
 GERALD T. SHEKLETON
 JAMES A. SCHEER
 DANIEL R. CHERRY
 ROBERT B. BREISBLATT
 JAMES P. WHITE
 R. MARK HALLIGAN
 HARTWELL P. MORSE, III
 EDWARD P. GANSON, Ph.D.
 KARA E.F. CENAR
 KATHLEEN A. RHEINTGEN
 THOMAS W. TOLPIN*
 RICHARD W. McLAREN, JR.
 ELLIOTT C. BANKENDORF
 MITCHELL J. WEINSTEIN
 JOHN L. AMBROGI
 JULIE A. KATZ
 JON P. CHRISTENSEN
 ERIC D. COHEN
 WALTER J. KAWULA, JR.
 LEONARD FRIEDMAN
 STEVEN E. FELDMAN
 JEFFREY W. SALMON
 THOMAS L. GEMMELL
 LOUISE T. WALSH
 PAUL M. VARGO, Ph.D.
 JOSEPH E. CWIK

RICHARD J. GURAK
 J. ARON CARNAHAN
 ERIK B. FLOM, Ph.D.
 DANIEL M. GURFINKEL
 MICHELE S. KATZ*
 NATALIE A. REMIEN
 BRIAN J. SODIKOFF
 BRETT M. TOLPIN
 GEORGE S. FAYLIK
 MICHAEL A. KROL, Ph.D.
 SHERRY L. ROLLO
 CHRISTOPHER K. MARLOW
 MAITREYA P. JANI
 CRAIG M. KUCHII

OF COUNSEL
 LAURIE A. MAYNIE
 JAMES J. MYRICK
 THOMAS R. VIGIL
 PHILIP D. SEGREST, JR.**
 WALLACE L. OLIVER, Ph.D.
 LAURA A. LABEOTS, Ph.D.

DONALD L. WELSH (1926-1996)

* ALSO ADMITTED IN DISTRICT OF COLUMBIA
 ** ALSO ADMITTED IN ALABAMA

By Facsimile (571) 273-0654

Commissioner for Patents
 P.O. Box 1450
 Alexandria, VA 22313-1450
 Attention: Examiner Ganapathy Krishnan

U.S. Application Serial No: 10/020,044
 Filed: December 13, 2001
 Applicant: Latifa DAHRICORREIA et al.
 Title: Pharmaceutical Compositions With Wound Healing Or Anti-Complementary Activity Comprising A Dextran Derivative
 Group Art Unit: 1623
 Confirmation No: 7477
 Attorney Docket No: 7594-84879

Dear Examiner Krishnan:

Enclosed is the priority French application No. FR 99 07636 (27 pages) as per your request and our discussions of January 27-28, 2005 for the above-identified application.

Very truly yours,



Thomas W. Tolpin
 Registration No. 27,600
 Attorney for Applicants

Enclosure

WASHINGTON OFFICE

CRYSTAL PLAZA ONE - SUITE 208 - 2001 JEFFERSON DAVIS HIGHWAY - ARLINGTON, VIRGINIA 22202-3903 - TELEPHONE (703) 415-4777

Pharmaceutical compositions with wound healing or anti-complementary activity comprising a dextran derivative

Patent number: FR2794976
Publication date: 2000-12-22
Inventor: DAHRI LATIFA; HUYNH REMI; CORREIA JOSE;
JOZEFOWICZ JACQUELINE; JOZEFOWICZ MARCEL
Applicant: SOLUTIONS (FR)
Classification:
- international: A61K31/721; A61L15/44
- european: A61K31/721; C08B37/00M2F
Application number: FR19990007636 19990616
Priority number(s): FR19990007636 19990616

Also published as:

WO0076452 (A3)
WO0076452 (A2)
EP1406637 (A3)
EP1406637 (A2)
US2002183282 (A1)

more >>

Abstract of FR2794976

The invention concerns pharmaceutical compositions with wound healing or anti-complementary activity, and their uses, said compositions comprising: (1) at least a dextran derivative of general formula $DMCaBbSuc$, a, b, and c respectively representing the degrees of substitution in the groups MC, B and Su, wherein $a \geq 0.6$, $b = 0$ or ≥ 0.1 , and $c = 0$ or ranges widely between 0.1 and 0.5 for a wound healing composition, and $a \geq 0.3$, $b \geq 0.1$ and $c = 0$ or ranges widely between 0.1 and 0.4 for a composition with anti-complementary activity; (2) and at least a pharmaceutically acceptable carrier, said dextran derivative being present in a single unit dose or at a concentration adapted to the desired wound healing or anti-complementary activity.

Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

⑬ RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

⑪ N° de publication :
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

2 794 976

⑫ N° d'enregistrement national :

99 07636

⑮ Int Cl⁷ : A 61 K 31/721, A 61 L 15/44

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

⑫

② Date de dépôt : 16.08.99.

③ Priorité :

④ Date de mise à la disposition du public de la
demande : 22.12.00 Bulletin 00/51.

⑤ Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du
présent fascicule*

⑥ Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

⑦ Demandeur(s) : SOLUTIONS Société anonyme — FR.

⑧ Inventeur(s) : DAHRI LATIFA, HUYNH REMI, COR-
REIA JOSE, JOZEFOWICZ JACQUELINE et JOZE-
FOWICZ MARCEL

⑨ Titulaire(s) :

⑩ Mandataire(s) : CABINET ORES.

⑪ COMPOSITIONS PHARMACEUTIQUES A ACTION CICATRISANTE OU ANTI-COMPLEMENTAIRE
COMPRENANT UN DERIVE DE DEXTRANE.

⑫ L'invention est relative à des compositions pharma-
ceutiques à action cicatrisante, notamment en cicatrisation
cutanée, musculaire, oculaire et de la muqueuse gastrique,
ou à action anti-complémentaire comprenant:

(1) au moins un dérivé de dextrane de formule générale
DMC_aB_bSu_c, dans laquelle:
D représente une chaîne polysaccharidique, de préfé-
rence constituée par des enchaînements d'unités glucosidi-
ques,

MC représente des groupes méthylcarboxylates,
B représente des groupes carboxyméthylbenzylamides,
Su représente des groupes sulfates (sulfatation des
fonctions hydroxyles libres portées par les unités glucosidi-
ques),

a, b et c représentent le degré de substitution (ds), expri-
mé par rapport au nombre de fonctions hydroxyles libres
dans une unité glucosidique du dextrane, respectivement
dans les groupements MC, B et Su; a étant ≥ à 0, b étant ≥ à 0,
1 et c étant égal à 0 ou compris, de façon large, entre 0, 1
et 0, 5 dans le cas d'une composition à action cicatrisante,
et a étant ≥ à 0, 3 b étant ≥ à 0, 1 et c étant égal à 0 ou com-
pris, de façon large, entre 0, 1 et 0, 4 dans le cas d'une com-
position à action anti-complémentaire.

(2) ainsi qu'au moins un excipient acceptable du point de
vue pharmaceutique,
ledit dérivé de dextrane étant présent à une dose unitai-
re ou à une concentration adaptée à l'action cicatrisante ou
anti-complémentaire recherchée.

FR 2 794 976 - A1



2794976

**COMPOSITIONS PHARMACEUTIQUES A ACTION CICATRISANTE OU
ANTI-COMPLEMENTAIRE COMPRENANT UN DERIVE DE DEXTRANE**

La présente invention est relative à des compositions pharmaceutiques à action cicatrisante ou anti-complémentaire comprenant au moins un dérivé de dextrane.

Différents dextrans substitués par des chaînes latérales portant des groupes carboxylates et sulfonates ont été décrits. En particulier, des dérivés du dextrane comportant respectivement 83 % ou 110 % d'unités substituées par des groupes carboxyméthyles, 23 % ou 2,6 % d'unités substituées par des groupes carboxyméthylbenzylamides et 13 % ou 36,5 % d'unités substituées par des groupes sulfonates, à savoir respectivement le RGTA9 et le RGTA11, ont été décrits pour leur action *in vivo*, chez le rat, sur la réparation cutanée (A. Meddahi *et al.*, Path. Res. Pract., 1994, 190, 923-928 ; A. Meddahi *et al.*, Diabetes & Metabolism (Paris), 1996, 22, 274-278) et sur la régénération musculaire (A. Aamiri *et al.*, Neuroscience Letters, 1995, 201, 243-246 ; J. Gautron *et al.*, C. R. Acad. Sci. Paris, Life sciences, Cell biology, 1995, 318, 671-6 ; A. Aamiri *et al.*, C. R. Acad. Sci. Paris, Life sciences, Neurosciences, 1995, 318, 1037-43).

En ce qui concerne la réparation cutanée, A. Meddahi *et al.* (*ibid*) proposent de combler des plaies cutanées par des pièces de collagène imbibées d'une solution de RGTA9 ou de RGTA11 ; dans ces conditions, une amélioration de la vitesse et de la qualité de la régénération cutanée est constatée. Elle pourrait être expliquée en ce que le RGTA9 ou le RGTA11 piègent, protègent et libèrent les facteurs de croissance endogènes naturellement sécrétés au cours de la cicatrisation cutanée. La protection des facteurs de croissance permettrait d'éviter leur dégradation par les protéases naturelles, préservant ainsi leur aptitude à stimuler la réparation tissulaire.

Dans le domaine de la régénération musculaire, A. Aamiri *et al.* et J. Gautron *et al.* (*ibid*) proposent d'injecter à des rats, dont les muscles rapides (EDL : *Extensor Digitorum Longus*) et/ou lents (*soleus*) ont été écrasés, une solution de RGTA11. Ils constatent une meilleure régénération des muscles suite à cette injection : les muscles traités présentent un plus grand nombre de fibres musculaires et une réinnervation plus rapide.

Toutefois, les RGTA9 et 11 précités, de par leur procédé de préparation, ont l'inconvénient de présenter une distribution irrégulière des groupements chimiques (carboxyméthyles, carboxyméthylbenzylamides et sulfonates)

2794976

2

et des chaînes polysaccharidiques, conduisant à un produit final hétérogène, dont il est difficile de contrôler les propriétés.

Les Inventeurs se sont donc donnés pour but de sélectionner des dérivés de dextrane différents des composés RGTA9 et 11 déjà décrits afin de
5 pourvoir à des compositions pharmaceutiques à action anti-complémentaire ou à action cicatrisante, notamment dans les domaines des cicatrisations cutanée, musculaire, oculaire ou de la muqueuse gastrique, qui répondent mieux au besoin de la pratique, notamment en ce qu'elles présentent une activité accrue, et qui soient aptes à être administrées chez l'homme, et ce sous des formes et à des doses adaptées à une
10 efficacité optimale.

Ainsi, les Inventeurs ont mis au point des compositions pharmaceutiques à action cicatrisante et anti-complémentaire à base de dérivés de dextrane particuliers.

La présente invention a pour objet une composition pharmaceutique
15 à action cicatrisante comprenant :

(1) au moins un dérivé de dextrane de formule générale $DMC_aB_bSu_c$, dans laquelle :

D représente une chaîne polysaccharidique, de préférence constituée par des enchaînements d'unités glucosidiques,

20 MC représente des groupes méthylcarboxylates,

B représente des groupes carboxyméthylbenzylamides,

Su représente des groupes sulfates (sulfatation des fonctions hydroxyles libres portées par les unités glucosidiques),

a, b et c représentent le degré de substitution (ds), exprimé par
25 rapport au nombre de fonctions hydroxyles libres dans une unité glucosidique du dextrane, respectivement en groupements MC, B et Su ; a étant \geq à 0,6, b étant \geq à 0,1 et c étant égal à 0 ou compris, de façon large, entre 0,1 et 0,5,

lesquels produits présentent une homogénéité de la distribution des tailles de chaînes, illustrée par un profil d'élution de type gaussien symétrique en
30 chromatographie d'exclusion stérique haute performance, et une homogénéité de la distribution des groupements chimiques chargés, illustrée par un profil d'élution à un seul pic symétrique en chromatographie d'échange d'ions basse pression,

(2) ainsi qu'au moins un excipient acceptable du point de vue pharmaceutique,

35 ledit dérivé de dextrane étant présent à une dose unitaire comprise entre 0,1 et 50 mg.

2794976

3

On entend par « excipient » tout adjuvant ou véhicule sans action pharmacologique mais permettant la fabrication, la conservation ou l'administration de la composition pharmaceutique. Tout excipient acceptable du point de vue pharmaceutique, choisi par exemple parmi les excipients couramment utilisés en galénique, peut être utilisé dans la composition pharmaceutique à action cicatrisante selon l'invention.

La composition pharmaceutique selon l'invention comprend ainsi des dérivés de dextrane qui sont significativement différents de ceux décrits dans l'Art antérieur sous les dénominations RGTA9 et 11, et ce notamment en ce qu'ils ne comprennent pas d'unités sulfonates.

Les dérivés du dextrane définis ci-dessus sont considérés comme étant des copolymères constitués par des sous-unités fictives R-OH et R-OX, X pouvant être un groupement méthylcarboxylate (MC), benzamide (B) ou sulfate (Su), la chaîne polysaccharidique du dextrane non substitué étant considérée comme étant constituée par 300 sous-unités fictives R-OH, au lieu de 100 unités glucosidiques, eu égard au fait qu'une unité glucosidique non substituée comporte trois groupes hydroxyles libres. Ainsi, un dextrane méthylcarboxylate (DMC) avec un degré de substitution (ds) de 1,2 en groupements méthylcarboxylates contient 1,20 groupement substitué (R-MC) et 1,80 groupement hydroxyle libre (R-OH), par unité glucosidique.

Les dérivés du dextrane de formule générale $DMC_xB_ySu_z$, telle que définie ci-dessus, peuvent être obtenus par un procédé qui comprend les étapes suivantes :

a) carboxyméthylation comprenant (i) l'activation d'un dextrane non substitué, par mise en contact dudit dextrane avec un milieu hydro-alcoolique liquide biphasique basique pendant au moins 1 h sous agitation, (ii) addition de l'acide monochloroacétique au produit activé obtenu, à une température comprise entre 40 et 90°C, de préférence à 60°C, le rapport R_{MC} égal au nombre de moles d'acide monochloroacétique/nombre de moles d'OH étant compris entre 0,3 et 2, (iii) isolement et éventuellement purification du dextrane méthylcarboxylate (DMC) obtenu ;

b) couplage de la benzylamine sur les groupes méthylcarboxylates (benzylamidification) comprenant (i) la mise en contact, pendant au moins 2 h et en milieu aqueux acide, du DMC obtenu en a) avec une amine primaire (benzylamine), en présence d'une carbodiimide hydrosoluble telle que le 1-cyclohexyl-3-(2-morpholinoéthyl)-carbodiimide méta-*p*-toluène sulfonate (CMC) ou le chlorhydrate de 1-éthyl-3-(3-diméthylamino-propyl)-carbodiimide (EDC) comme

2794976

4

agent de couplage, à une température comprise entre 0°C et 30°C, le rapport molaire carbodiimide hydrosoluble/MC étant compris entre 0,25 et 2 et le rapport molaire benzylamine/MC étant compris entre 0,25 et 2, (ii) l'isolement du dextrane méthylcarboxyle benzamide (DMCB) obtenu et éventuellement sa purification ;

- 5 cette étape, réalisée en milieu homogène et en présence d'une carbodiimide hydrosoluble comme réactif de couplage, permet de maîtriser la réaction et donc la préparation du produit final, ce dernier présentant une homogénéité de la distribution des tailles de chaînes, illustrée par un profil d'élution de type gaussien symétrique en chromatographie d'exclusion stérique haute performance, et une
- 10 homogénéité de la distribution des groupements chimiques chargés, illustrée par un profil d'élution à un seul pic symétrique en chromatographie d'échange d'ions basse pression ;

puis

- c) sulfatation comprenant (i) la formation d'un sel de
- 15 trialkylammonium du DMCB obtenu en b), (ii) la solubilisation du sel obtenu dans un solvant polaire anhydre, généralement une base de Lewis (donneur d'électron), telle que le diméthylsulfoxyde (DMSO) ou la diméthylformamide (DMF) et (iii) l'ajout audit sel en solution, d'un complexe à base de trioxyde de soufre tel que SO₃-pyridine, SO₃-triéthylamine ou SO₃-DMF en solution dans le même solvant, à une température
- 20 inférieure à 70°C, le rapport molaire complexe à base de trioxyde de soufre/OH libres étant compris entre 0,25 et 12.

- Les dérivés de dextrane utilisés dans la composition pharmaceutique selon l'invention, qui sont préparés selon le protocole décrit ci-dessus, sont tels que la distribution des groupements chimiques confère au produit final une propriété
- 25 biologique spécifique ; une telle distribution a pour conséquence que la composition chimique de chaque chaîne polysaccharidique est identique à la composition chimique globale du produit. De ce fait, il existe une composition chimique optimale pour une activité biologique spécifique maximale ; il y a donc une relation directe entre la propriété biologique considérée et la composition chimique globale du produit.

- 30 De façon particulièrement avantageuse, la composition selon l'invention, qui comprend au moins un dérivé de dextrane tel que décrit ci-dessus, à la dose unitaire sus-mentionnée, permet d'obtenir une action cicatrisante particulièrement efficace.

- Cette propriété est liée à l'interaction entre les dérivés de dextrane et
- 35 les facteurs de croissance qui sont naturellement sécrétés au niveau d'un site lésé, comme cela a été démontré notamment par A. Meddahi *et al.* dans Journal of

①⑨ RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

①① N° de publication :
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

2 794 976

②① N° d'enregistrement national :

99 07636

⑤① Int Cl⁷ : A 61 K 31/721, A 61 L 15/44

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

⑫

②② Date de dépôt : 16.06.99.

③③ Priorité :

④③ Date de mise à la disposition du public de la
demande : 22.12.00 Bulletin 00/51.

⑤⑥ Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du
présent fascicule*

⑥① Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

⑦① Demandeur(s) : SOLUTIONS Société anonyme — FR.

⑦② Inventeur(s) : DAHRI LATIFA, HUYNH REMI, COR-
REIA JOSE, JOZEFOWICZ JACQUELINE et JOZE-
FOWICZ MARCEL.

⑦③ Titulaire(s) :

⑦④ Mandataire(s) : CABINET ORES.

⑤④ COMPOSITIONS PHARMACEUTIQUES A ACTION CICATRISANTE OU ANTI-COMPLEMENTAIRE
COMPRENANT UN DERIVE DE DEXTRANE.

⑤⑦ L'invention est relative à des compositions phar-
maceutiques à action cicatrisante, notamment en cicatrisation
cutanée, musculaire, oculaire et de la muqueuse gastrique,
ou à action anti-complémentaire comprenant :

(1) au moins un dérivé de dextrane de formule générale
DMC_aB_bSu_c, dans laquelle :

D représente une chaîne polysaccharidique, de préfé-
rence constituée par des enchaînements d'unités glucosidi-
ques,

MC représente des groupes méthylcarboxylates,

B représente des groupes carboxyméthylbenzylamides,

Su représente des groupes sulfates (sulfatation des
fonctions hydroxyles libres portées par les unités glucosidi-
ques),

a, b et c représentent le degré de substitution (ds), expri-
mé par rapport au nombre de fonctions hydroxyles libres
dans une unité glucosidique du dextrane, respectivement
en groupements MC, B et Su; a étant ≥ à 0, b étant ≥ à 0,
1 et c étant égal à 0 ou compris, de façon large, entre 0, 1
et 0, 5 dans le cas d'une composition à action cicatrisante,
et a étant ≥ à 0, 3 b étant ≥ à 0, 1 et c étant égal à 0 ou com-
pris, de façon large, entre 0, 1 et 0, 4 dans le cas d'une com-
position à action anti-complémentaire,

(2) ainsi qu'au moins un excipient acceptable du point de
vue pharmaceutique,
ledit dérivé de dextrane étant présent à une dose unitai-
re ou à une concentration adaptée à l'action cicatrisante ou
anti-complémentaire recherchée.

FR 2 794 976 - A1



2794976

5

Biomedical Materials Research, 1996, 31, 293-297, par J. Lafont *et al.* dans Growth factors, 1998, 16, 23-38 et par F. Blanquaert *et al.* dans Journal of Biomedical Materials Research, 1999, 44, 63-72. F. Blanquaert *et al.* (*ibid*) ont montré qu'un degré de substitution élevé en unités sulfonates est important pour qu'un dérivé de dextrane interagisse avec des facteurs de croissance. De façon surprenante, les dérivés de dextrane utilisés dans la composition pharmaceutique selon l'invention, qui ne comprennent pas de groupes sulfonates, sont néanmoins capables de protéger les facteurs de croissance, tels que les FGFs (*Fibroblast Growth Factors*), les TGF- β (*Transforming Growth Factors*) et les IGFs (*Insulin-like Growth Factors*), contre les dégradations protéolytiques et de favoriser ainsi leur action bénéfique sur la cicatrisation.

De préférence, le dérivé de dextrane présent dans la composition pharmaceutique décrite ci-dessus est tel que q est non nul.

Selon un mode de réalisation avantageux de la composition pharmaceutique selon l'invention, cette dernière présente une action sur la cicatrisation de la muqueuse gastrique.

Dans ce mode de réalisation, le dérivé de dextrane est de préférence présent, dans la composition pharmaceutique, à une dose unitaire comprise entre 1,5 et 10 mg. Ladite composition pharmaceutique, qui se présente avantageusement sous la forme d'un gel, d'un pansement gastrique, d'un sirop ou d'une solution buvable, est alors administrée par voie orale.

Selon un autre mode de réalisation avantageux de la composition pharmaceutique selon l'invention, cette dernière présente une action sur la cicatrisation musculaire.

Dans ce mode de réalisation, le dérivé de dextrane est de préférence présent, dans la composition pharmaceutique, à une dose unitaire comprise entre 0,5 et 50 mg.

Selon une disposition avantageuse de ce mode de réalisation, la composition pharmaceutique se présente sous la forme d'un gel, d'une pommade ou d'une solution isotonique, c'est-à-dire d'une solution dont la pression osmotique est la même que celle du sang. La composition pharmaceutique peut alors être administrée par voie parentérale, par exemple sous la forme d'une injection intramusculaire, ou par application externe locale.

Selon un autre mode de réalisation avantageux de la composition pharmaceutique selon l'invention, cette dernière présente une action sur la cicatrisation oculaire.

2794976

6

Dans ce mode de réalisation, le dérivé de dextrane est de préférence présent, dans la composition pharmaceutique, à une dose unitaire comprise entre 0,1 et 10 mg.

Selon une disposition avantageuse de ce mode de réalisation, la composition pharmaceutique se présente sous la forme d'un collyre ou d'une pommade ophtalmique.

La présente invention a également pour objet une composition pharmaceutique à action sur la cicatrisation cutanée, adaptée à une administration par la voie topique, comprenant :

(1) au moins un dérivé de dextrane de formule générale $DMC_nB_mSu_p$, tel que défini précédemment,

(2) ainsi qu'au moins un excipient acceptable du point de vue pharmaceutique,

ledit dérivé de dextrane étant présent à une concentration inférieure à 1 % (en poids/volume).

Ladite composition est appliquée sur la plaie cutanée par la voie topique (voie locale externe), par exemple par l'intermédiaire d'une compresse, de façon classique une compresse en coton ou en tissu, qui est imbibée de la composition selon l'invention, à la concentration indiquée ci-dessus.

De préférence, le dérivé de dextrane présent dans la composition pharmaceutique selon l'invention est tel que q est non nul.

Selon un mode de réalisation avantageux, ladite composition pharmaceutique se présente sous la forme d'une pâte, d'une pommade, d'un liquide aqueux, d'un liquide huileux, d'un gel aqueux, d'un gel huileux, d'un aérosol, d'une mousse, d'une microémulsion, d'une émulsion multiple, de liposomes ou de nanoparticules.

On entend par « pâte » une pâte anhydre, par exemple à base de propylène glycol, de glycérol ou d'acide stéarique. Une pommade peut être obtenue en utilisant du polyéthylène glycol, de la vaseline ou encore de la paraffine liquide.

Ladite composition pharmaceutique pourrait également, par exemple, se présenter sous la forme d'une poudre, c'est-à-dire d'un lyophilisat apte à être remis sous la forme d'une solution au moment de son utilisation.

La présente invention a également pour objet une composition pharmaceutique à action anti-complémentaire comprenant :

(1) au moins un dérivé de dextrane de formule générale $DMC_nB_mSu_p$, dans laquelle :

2794976

7

D représente une chaîne polysaccharidique, de préférence constituée par des enchaînements d'unités glucosidiques,

MC représente des groupes méthylcarboxylates,

B représente des groupes carboxyméthylbenzylamides,

5 Su représente des groupes sulfates (sulfatation des fonctions hydroxyles libres portées par les unités glucosidiques),

a, b et c représentent le degré de substitution (ds), exprimé par rapport au nombre de fonctions hydroxyles libres dans une unité glucosidique du dextrane, respectivement en groupements MC, B et Su ; a étant $\geq 0,3$, b étant $\geq 0,1$ et c étant égal à 0 ou compris, de façon large, entre 0,1 et 0,4,

10 lesquels produits présentent une homogénéité de la distribution des tailles de chaînes, illustrée par un profil d'élution de type gaussien symétrique en chromatographie d'exclusion stérique haute performance, et une homogénéité de la distribution des groupements chimiques chargés, illustrée par un profil d'élution à un seul pic symétrique en chromatographie d'échange d'ions basse pression,

15 (2) ainsi qu'au moins un excipient acceptable du point de vue pharmaceutique,

ledit dérivé de dextrane étant présent à une dose unitaire comprise entre 5 et 30 mg.

20 On entend par « excipient » tout adjuvant ou véhicule sans action pharmacologique mais permettant la fabrication, la conservation ou l'administration de la composition pharmaceutique. Tout excipient acceptable du point de vue pharmaceutique, choisi par exemple parmi les excipients couramment utilisés en galénique, peut être utilisé dans la composition pharmaceutique à action anti-complémentaire selon l'invention.

25 La composition pharmaceutique selon l'invention comprend ainsi des dérivés de dextrane qui sont significativement différents de ceux décrits dans l'Art antérieur sous les dénominations RGTA9 et 11, et ce notamment en ce qu'ils ne comprennent pas d'unités sulfonates.

30 De façon particulièrement avantageuse, la composition pharmaceutique selon l'invention, qui comprend au moins un dérivé de dextrane tel que décrit ci-dessus, à la dose unitaire sus-mentionnée, permet d'obtenir une action anti-complémentaire particulièrement efficace.

De préférence, le dérivé de dextrane est tel que c est non nul.

2794976

8

Selon un mode de réalisation avantageux de la composition pharmaceutique selon l'invention, cette dernière se présente sous la forme d'une solution isotonique. Elle est alors administrée par injection.

La présente invention a, en outre, pour objet un pansement, caractérisé en ce qu'il est imbibé de la composition pharmaceutique à action sur la cicatrisation cutanée, adaptée à une administration par la voie topique, telle que décrite précédemment.

Dans les compositions pharmaceutiques à action cicatrisante ou anti-complémentaire décrites ci-dessus, les dérivés de dextrane présentent une meilleure efficacité lorsque ϵ est différent de 0; lorsque $\epsilon = 0$, les compositions pharmaceutiques peuvent avantageusement être utilisées en tant que cosmétiques, notamment dans le cas des compositions à action cicatrisante, plutôt qu'en tant que médicaments.

On ne sortirait pas du cadre de la présente invention en ajoutant aux compositions pharmaceutiques à action cicatrisante ou anti-complémentaire décrites ci-dessus, si cela est nécessaire, des additifs acceptables du point de vue pharmaceutiques, par exemple des conservateurs, des antioxydants, des antibactériens, des facteurs de pénétration, des colorants, des édulcorants et des arômes, ainsi que un ou plusieurs autres principes actifs, par exemple un antibiotique.

Les compositions pharmaceutiques à action cicatrisante ou anti-complémentaire décrites ci-dessus peuvent être utilisées aussi bien en santé humaine qu'en santé animale (usage vétérinaire).

En ce qui concerne les doses unitaires indiquées ci-dessus pour les compositions pharmaceutiques à activité cicatrisante ou anti-complémentaire selon l'invention, elles sont indiquées par rapport à un individu adulte d'environ 70 kg; il est bien entendu toutefois que l'Homme de l'Art adaptera ces doses en fonction du poids, de l'âge et de la pathologie ou des symptômes de l'individu.

Outre les dispositions qui précèdent, l'invention comprend encore d'autres dispositions, qui ressortiront de la description qui va suivre, qui se réfère à des exemples de mise en oeuvre du procédé objet de la présente invention ainsi qu'aux dessins annexés, dans lesquels :

- la figure 1 illustre schématiquement la structure d'un dextrane substitué par les différents groupements chimiques fixés sur les unités glucosidiques; la position du substituant sur les différents carbones des unités de base glucosidiques est présentée en 2, à titre d'exemple;

2794976

9

la figure 2 illustre l'activité anti-complémentaire d'un dérivé de dextrane de formule générale $DMC_bB_gSu_s$; dans cette figure, le CH50 (%), mesuré comme indiqué dans l'exemple 5, est représenté en fonction du temps (heures).

Il doit être bien entendu, toutefois, que ces exemples sont donnés uniquement à titre d'illustration de l'objet de l'invention, dont ils ne constituent en aucune manière une limitation.

EXEMPLE 1 : Absence de groupes sulfonates dans les différents dérivés de dextrane de formule générale $DMC_bB_gSu_s$, utilisés dans les compositions pharmaceutiques selon la présente invention.

a) Protocole

Le protocole de désulfatation suivant, propre à désulfater divers produits sans éliminer des groupes sulfonates éventuellement présents, a été suivi.

Le produit sous forme de sel de sodium (250 mg, 10 ml) est agité lentement à température ambiante avec 3 ml de résine échangeuse de cations (Amberlite® IR120 H+, 16-45 mesh, capacité d'échange totale : 1,9 meq/ml). Après 2 h, la solution acide est filtrée, neutralisée avec de la pyridine (1 à 2 ml) jusqu'à un pH de 6-6,5 et évaporée à sec. Le sel de pyridinium obtenu est repris 3 fois avec 10 ml de méthanol anhydre et évaporé à sec.

Le résidu est dispersé dans 25 ml d'un mélange 90:9:1 en diméthylsulfoxyde (DMSO), méthanol et pyridine. La solution est agitée dans un bain d'huile chauffé à 90°C pendant 72 h. La réaction est arrêtée en ajoutant 20 ml d'eau bidistillée froide, puis le mélange est neutralisé avec une solution aqueuse de NaOH 1M. Le produit désulfaté est purifié par chromatographie d'exclusion stérique basse pression sur une colonne Sephadex® G15 puis diafiltré sur cellule équipée d'une membrane de seuil de coupure 1000 Da. Entre 160 et 210 mg de produit désulfaté sont obtenus.

Les produits soumis à ce protocole sont des dérivés de dextrane dont les compositions sont les suivantes, D, MC, B, Su et S représentant respectivement les unités glucosidiques de la chaîne polysaccharidique, les groupes méthylcarboxylates, les groupes carboxyméthylbenzylamides, les groupes sulfates et les groupes sulfonates :

A : $DMC_bB_gSu_sS_d$: $a = 0,87$, $b = 0,16$, $c = 0,5$ et $d = 0,10$,

B : $DMC_bB_gSu_sS_d$: $a = 0,87$, $b = 0,16$, $c = 0,6$ et $d = 0,07$,

C : $DMC_bB_gSu_sS_d$: $a = 0,87$, $b = 0,16$, $c = 1,0$ et $d = 0,05$,

D : $DMC_bB_gSu_s$: $a = 0,81$, $b = 0,18$ et $c = 0,40$,

E : $DMC_bB_gSu_s$: $a = 0,81$, $b = 0,18$ et $c = 0,30$,

2794976

10

F : DMC₁Su₁ : $\bar{a} = 0,95$ et $\bar{c} = 0,48$,G : DMC₁Su₁ : $\bar{a} = 0,95$ et $\bar{c} = 0,93$

Les composés A à C, F et G correspondent à des composés de référence, alors que les composés D et E correspondent à des dérivés de dextrane utilisés dans les compositions pharmaceutiques selon l'invention.

b) Résultats

Le tableau I regroupe les teneurs en soufre, mesurées par analyse élémentaire, par rapport à 100 g du dérivé de dextrane, avant et après désulfatation pour chacun des produits A à G décrits ci-dessus.

10

Tableau I : teneurs en soufre.

Dérivé de dextrane	Avant désulfatation. Soufre (g/100 g)	Après désulfatation. Soufre (g/100 g)
A	1,91	0,43
B	2,00	0,25
C	3,00	0,15
D	1,18	0
E	0,96	0
F	1,66	0
G	2,80	0

Après désulfatation, on constate l'absence totale de soufre dans les produits D à G, préparés à partir d'un complexe SO₂-pyridine, alors que les produits A à C présentent un taux en soufre nettement inférieur, mais non nul. Il ressort donc de ces résultats que l'absence de soufre correspond à l'absence de groupes sulfonates.

Pour confirmer ce résultat, un sel de sodium de l'acide sulfanilique (sel de sodium de l'acide para-aniline-sulfonique : H₂N-C₆H₄-SO₃Na) a été couplé à un dérivé de dextrane de formule générale DMC₁, dans laquelle $\bar{a} = 0,95$, en suivant le même procédé que celui précédemment décrit pour coupler la benzylamine sur un dérivé de dextrane portant des groupes carboxyméthyles. Le dérivé obtenu ne contient donc, outre des groupes carboxyméthyles, que des groupes sulfonates. Sa teneur en soufre est de 1,20 g/100 g. Après soumission de ce dérivé au protocole de désulfatation décrit ci-dessus, sa teneur en soufre est de 1,08 g/100 g. Les groupements sulfonates ne sont donc globalement pas atteints par le procédé de désulfatation. L'absence de soufre dans les dérivés du dextrane traités par désulfatation signifie donc bien une absence de groupes sulfonates.

2794976

11

Il ressort ainsi de cet exemple que les dérivés de dextrane de formule générale $DMC_xB_ySu_z$ utilisés dans les compositions pharmaceutiques selon la présente invention ne possèdent pas de groupes sulfonates.

EXEMPLE 2 : Action d'un dérivé de dextrane de formule générale $DMC_xB_ySu_z$ *in vivo* sur la cicatrisation cutanée.

a) Protocole

Les animaux utilisés sont des lapins albinos de souche néo-zélandaise, âgés de 1 an et pesant de 3,5 à 4,0 kg. On utilise deux lots d'animaux, chacun étant constitué de 6 mâles et de 6 femelles. Le premier lot est traité par un dérivé de dextrane de formule générale $DMC_xB_ySu_z$ avec $x = 0,80$, $y = 0,20$ et $z = 0,20$, alors que le deuxième lot sert de contrôle, les animaux ne recevant qu'une solution physiologique.

Le protocole suivi est le suivant :

- deux plaies cutanées dermo-épidermiques de 6 mm de diamètre sont pratiquées de part et d'autre de l'axe vertébral,
- une compresse imbibée, selon les lots d'animaux, soit d'une solution à 50 µg/ml, dans un tampon PBS, du dérivé de dextrane mentionné ci-dessus, soit d'une solution physiologique, est appliquée deux fois par jour sur les plaies cutanées,
- des examens des plaies et de l'état général des animaux sont réalisés quotidiennement, l'évolution de la cicatrisation étant effectuée par des prélèvements au niveau des plaies à J2, J4, J6, J8, J10, J15 et J30 (le processus cicatriciel est considéré en jours à partir de la date à laquelle les plaies cutanées sont effectuées),
- les prélèvements sont préparés sous forme de coupes et sont analysés par des études histologiques.

b) Résultats

Les différents phénomènes histologiques constatés sont résumés dans les tableaux II à IV ci-après.

Le tableau II résume l'état de la matrice extracellulaire en fonction du nombre de jours de cicatrisation, selon les critères suivants : présence de cellules inflammatoires et de fibroblastes (0 : absence de ces cellules ; +, ++ et +++ : présence de ces cellules, leur nombre étant d'autant plus important que le nombre de signes + est élevé) et caractéristiques des vaisseaux sanguins (+ : présence de vaisseaux ; 0 : absence de vaisseaux ; haut : vaisseaux étudiés sur la partie supérieure de la coupe histologique ; bas : vaisseaux étudiés sur la partie inférieure de la coupe

2794976

12

histologique, correspondant à la partie la plus proche du derme).

Tableau II : matrice extracellulaire.

Jours de cicatrisation	Cellules inflammatoires		Fibroblastes		Vaisseaux (vx)	
	Animaux traités	contrôle	Animaux traités	contrôle	Animaux traités	contrôle
2	+	+++	+	0	0	0
4	+	++	++	+	haut : vx arrondis bas : vx matures	haut : 0 bas : vx dirigés vers le haut de la plaie
6	0	++	+++	++	vx matures	haut : vx allongés et matures
15	0	0	+	++	+	+
30	0	0	+	+	peu de vx	peu de vx

- 5 Il ressort du tableau II que la maturation de la matrice extracellulaire est plus importante et plus précoce chez les animaux traités par le dérivé de dextrane par rapport au groupe de contrôle. En particulier, les cellules inflammatoires sont moins nombreuses dans les plaies traitées par le dérivé de dextrane, par rapport aux plaies non traitées, qui révèlent une persistance des phénomènes inflammatoires. Dans
- 10 les plaies traitées par le dérivé de dextrane, on note également que les fibroblastes, outre leur apparition plus précoce, sont orientés et produisent une matrice extracellulaire plus importante.

- Le tableau III résume l'état de l'épiderme, dans les cas où il est présent, en fonction du nombre de jours de cicatrisation, le terme « migration »
- 15 indiquant une initiation de la reconstruction de l'épiderme par la migration des kératinocytes.

20

2794976

13

Tableau III : épiderme.

jours de cicatrisation	animaux traités	contrôle
2	abscence	absence
4	migration	migration
6	reconstitué et différencié	migration
15	mature	reconstitué et en maturation
30	mature	mature

De façon classique, la régénération de l'épiderme implique une migration des cellules du derme, suivie d'une phase de reconstruction, au cours de laquelle les cellules prolifèrent, puis d'une maturation de l'épiderme régénéré. Il ressort du tableau III que l'épiderme se reconstruit nettement plus vite chez les animaux traités par le dérivé de dextrane que chez les groupe de contrôle.

Le tableau IV ci-dessous résume la cinétique d'apparition du facteur de croissance TGF β (*Transforming Growth Factor*) au niveau des plaies en fonction du nombre de jours de cicatrisation (0 : absence de TGF β ; +, ++ et +++ : présence de TGF β , en quantité d'autant plus importante que le nombre de signes + est élevé).

Tableau IV : cinétique d'apparition du facteur de croissance TGF β .

jours de cicatrisation	animaux traités	contrôle
2	0	0
4	+++	+
6	+	++
15	0	0
30	0	0

Il ressort du tableau IV que la cinétique d'apparition du facteur de croissance TGF β diffère chez les animaux traités par un dérivé de dextrane par rapport aux animaux non traités : le TGF β apparaît en grande quantité dès J4 chez les animaux traités, alors qu'il n'apparaît substantiellement qu'à J6 chez les animaux non traités, et ce en quantité moindre.

2794976

14

**EXEMPLE 3 : Action d'un dérivé de dextrane de formule générale $DMC_xB_ySu_z$,
in vivo sur la cicatrisation gastrique.**

a) Protocole

- Les animaux utilisés sont des rats mâles Sprague-Dawley, âgés de 5 12 semaines et pesant de 200 à 250 g. On utilise trois lots d'animaux, chacun étant constitué de 4 animaux :
- le premier lot est traité par un dérivé de dextrane de formule générale $DMC_xB_ySu_z$ avec $x = 0,75$, $y = 0,25$ et $z = 0,15$, à raison de 50 µg/kg,
 - le deuxième lot sert de contrôle, les animaux étant traités par un 10 dextrane natif T40 (Pharmacia Fine Chemical ; masse molaire moyenne en poids M_w : 37500 g/mol ; M_w/M_n : 1,7, M_n représentant la masse moyenne en nombre), à raison de 50 µg/kg,
 - le troisième lot est traité par la prostaglandine E2 (Sigma ; dose de 10 µg/kg), qui a un effet protecteur de la muqueuse gastrique contre les produits 15 irritants induisant une réaction inflammatoire locale. Ce lot correspond donc à un témoin positif.

Le dérivé de dextrane, le dextrane natif et la prostaglandine E2 sont dissous dans du sérum physiologique et administrés aux animaux par voie orale.

- Les animaux sont sacrifiés à différents stades de la cicatrisation, à 20 savoir à J2, J4, J7 et J14, le processus cicatriciel étant considéré en jours à partir de la date à laquelle l'irritation gastrique est induite. La muqueuse gastrique est récupérée en vue de deux études :

- la quantification de l'atteinte de la muqueuse gastrique,
- l'isolement des récepteurs de facteurs de croissance (EGF : 25 *Epidermal Growth Factor* ; PDGF : *Platelet-Derived Growth Factor* et TGF : *Transforming Growth Factor*). Ces facteurs de croissance sont en effet connus pour leur rôle important dans la cicatrisation gastrique : le TGF et l'EGF contrôlent la prolifération cellulaire en se fixant sur leurs récepteurs, alors que l'EGF favorise la restauration tissulaire et l'apparition de microvaisseaux.

b) Résultats

- *Atteinte de la muqueuse gastrique.*

Le tableau V regroupe les résultats de l'étude macroscopique de la réaction inflammatoire au niveau de la muqueuse gastrique, effectuée selon le barème suivant :

- 35 (0) Muqueuse normale.
(+) Petites stries hémorragiques superficielles.

2794976

15

- (+ +) Stries hémorragiques superficielles, courtes et larges.
 (+ + +) Stries hémorragiques superficielles, longues et larges.
 (+ + + +) Perforations.

5 Tableau V : atteinte de la muqueuse gastrique.

jours	dérivé de dextrane	prostaglandine E2	dextrane T40
J2	++	++	+++
J4	+	+	+++
J7	+	+	++
J14	0	0	++

Il ressort du tableau V que le dérivé de dextrane exerce des effets comparables à ceux de la prostaglandine E2, mais bien meilleurs que ceux du dextrane T40.

10 Ces résultats traduisent le fait que le dérivé de dextrane est capable de protéger les facteurs de croissance endogènes responsables de l'accélération de la cicatrisation de la muqueuse gastrique.

• Récepteurs de facteurs de croissance.

15 La cicatrisation gastrique se manifeste par l'augmentation des récepteurs de deux facteurs de croissance : EGF et PDGF. Au jour J4, le groupe traité par le dérivé de dextrane présente 1,7 à 1,8 fois plus de récepteurs à ces deux facteurs de croissance que le groupe traité par le dextrane T40. Au jour J7, la quantité de récepteurs à ces deux facteurs de croissance est 3 fois supérieure dans le groupe traité par le dérivé de dextrane, par rapport au groupe traité par le dextrane T40.

20 **EXEMPLE 4** : Action d'un dérivé de dextrane de formule générale $DMC_nB_mSu_n$ *in vivo* sur la cicatrisation musculaire.

a) Protocole

25 Les animaux utilisés sont des rats mâles Wistar, âgés de 12 semaines et pesant de 200 à 300 g. On utilise deux lots d'animaux, chacun étant constitué de 6 rats.

Le protocole suivi est le suivant : après anesthésie par de l'éther, les muscles des pattes postérieures sont dégagés de la loge antérieure de la jambe et lésés mécaniquement par application, pendant 10 secondes, d'une pression constante sur toute la longueur du muscle à l'aide d'une pince de péan maintenue au deuxième cran.

30 Le muscle est ensuite replacé dans sa loge après avoir reçu une injection de 200 μ l soit d'une solution de 20 μ g/ml de dérivé de dextrane de formule

2794976

16

générale $DMC, B_x Su_x$ avec $a = 0,75$, $b = 0,25$ et $c = 0,15$ (patte droite), soit d'une solution physiologique (patte gauche). Le muscle est laissé en place pendant 3 minutes afin de laisser le produit diffuser, puis la peau est suturée.

- Les muscles traités (pattes postérieures droites et gauches) sont prélevés après 7 jours et congelés à $-150^{\circ}C$. Des coupes transversales de $10 \mu m$ sont alors effectuées dans la région médiane du muscle. Les coupes séchées sont colorées par le trichrome de Gomori.

b) Résultats

- Le tableau VI regroupe l'analyse morphométrique du nombre de fibres et de leur diamètre, effectuée sur des montages micrographiques correspondant à une hémicoupe transversale du muscle.

Tableau VI : Analyse morphométrique des muscles.

	Muscle traité par le dérivé de dextrane	Muscle traité par le sérum physiologique
Diamètre des muscles (mm)	$6,5 \pm 0,3$	$4,3 \pm 0,2$
Nombre de faisceaux musculaires par coupe	21 ± 2	11 ± 3
Nombre de fibres par faisceau	78 ± 10	65 ± 5
Densité des fibres (nombre/mm ²)	722 ± 52	83 ± 12

- Il ressort du tableau VI que les muscles traités par le dérivé de dextrane se régénèrent plus rapidement que les muscles non traités : la densité de fibres est nettement plus élevée que celle des muscles n'ayant reçu qu'une solution de sérum physiologique. Le nombre de faisceaux musculaires et le diamètre des muscles traduisent respectivement une réorganisation musculaire accélérée et un degré de maturation des muscles amélioré dans le cas d'un traitement par le dérivé de dextrane.
- EXEMPLE 5 :** Action d'un dérivé de dextrane de formule générale $DMC, B_x Su_x$ in vivo sur la cicatrisation oculaire.

a) Protocole

- On utilise 20 lapins albinos de souche néo-zélandaise (10 mâles et 10 femelles), âgés de 1 an et pesant de 2,5 à 3 kg, auxquels un filtre de 5,5 mm imbibé d'une solution de soude 1N a été placé pendant 60 secondes dans l'œil droit, et qui sont répartis en 4 groupes de 5 animaux :

- le premier groupe est traité, trois fois par jour, par $100 \mu l$ d'une solution contenant $0,1 \text{ ng}$ de FGF-2 (*Fibroblast Growth Factor-2*) ;

2794976

17

- le second groupe est traité, trois fois par jour, par 100 µl d'une solution isotonique contenant 50 µg/ml de dérivé de dextrane de formule générale $DMC_xB_ySu_z$ avec $a = 0,75$, $b = 0,31$ et $c = 0,34$;

5 - le troisième groupe est traité, trois fois par jour, par 100 µl d'une solution contenant 0,1 ng de FGF-2 et 50 µg/ml du dérivé de dextrane sus-mentionné ;

- le quatrième groupe (contrôle) est traité, trois fois par jour, par 100 µl d'une solution de tampon PBS.

La vitesse de cicatrisation oculaire des quatre groupes d'animaux est comparée par des études histologiques réalisées aux jours J1, J2, J4, J6 et J8.

10 b) Résultats

Il ressort des études histologiques réalisées que la durée de cicatrisation oculaire, exprimée selon une moyenne pour chaque groupe d'animaux, est de 4 jours pour le troisième groupe, 5 jours pour le premier groupe, 6 jours pour le second groupe et 8 jours pour le groupe de contrôle. La cicatrisation oculaire est donc plus rapide chez les animaux traités par le dérivé de dextrane, par rapport au groupe de

15 contrôle. On remarque également que la cicatrisation est plus précoce quand le dérivé de dextrane est combiné à un facteur de croissance, et ce en comparaison au dérivé de dextrane et au facteur de croissance seul, ce qui montre l'effet protecteur et potentialisateur du dérivé de dextrane utilisé dans les compositions selon la présente

20 invention vis-à-vis des facteurs de croissance.

EXEMPLE 6 : Action anti-complémentaire *in vivo* d'un dérivé de dextrane de formule générale $DMC_xB_ySu_z$.

a) Protocole

Les animaux utilisés sont des rats mâles Sprague-Dawley, âgés de

25 12 semaines et pesant de 200 à 300 g. On utilise trois lots d'animaux, chacun étant constitué de 5 rats :

- le premier lot reçoit une injection de 500 µl d'une solution contenant du Séphadex® G25 à raison de 20 µg (le Séphadex® est un activateur de la voie alterne du système du complément chez l'homme),

30 - le second lot reçoit une injection de 500 µl d'une solution contenant du Séphadex® G25 à raison de 20 µg ainsi que 50 µg de dextrane natif (40 000 g/mol),

- le troisième groupe reçoit une injection de 500 µl d'une solution contenant du Séphadex G25 à raison de 20 µg ainsi que 50 µg de dérivé de dextrane

35 de formule générale $DMC_xB_ySu_z$ avec $a = 0,60$, $b = 0,35$ et $c = 0,25$.

Le clivage de la protéine C3 est déterminé par

2794976

18

immunoélectrophorèse avec un anticorps anti-C3.

L'action anticomplémentaire est étudiée selon un dosage hémolytique ou CH50, selon un protocole dans lequel le sérum des rats, prélevé à différents intervalles de temps, est activé par des érythrocytes de mouton sensibilisés par des anticorps de lapin antiglobules rouges de mouton (EA). Par définition, une
5 unité CH50 correspond à la concentration de protéines du complément (contenue dans un millilitre de sérum) capable d'induire l'hémolyse de 50 % de 2×10^7 EA activés dans un milieu réactionnel où sont maintenus constants le volume, la température et le temps de réaction. Le nombre de sites hémolytiques par cellule est calculé.

10 b) Résultats

Une immunoélectrophorèse avec un anticorps anti-C3 faite sur le sérum des rats ayant reçu le dérivé de dextrane (troisième lot d'animaux) ne montre pas de clivage de la protéine C3, contrairement aux sérums des rats ayant reçu le
dextrane natif et/ou le Séphadex (premier et second lots d'animaux).

15 Le dextrane natif n'a aucun effet sur l'inhibition de l'activation du complément.

Le dérivé de dextrane utilisé dans la composition pharmaceutique selon l'invention induit une action inhibitrice du complément très rapide, comme le montre la figure 2, qui représente le CH50 (%) en fonction du temps (heures). Cette se
20 poursuit 4 heures après l'injection. Le CH50 revient à son niveau initial 20 heures après l'injection.

Ainsi que cela ressort de ce qui précède, l'invention ne se limite nullement à ceux de ses modes de mise en oeuvre, de réalisation et d'application qui viennent d'être décrits de façon plus explicite ; elle en embrasse au contraire toutes les
25 variantes qui peuvent venir à l'esprit du technicien en la matière, sans s'écarter du cadre, ni de la portée, de la présente invention.

2794976

19

REVENDICATIONS

1°) Composition pharmaceutique à action cicatrisante comprenant :

(1) au moins un dérivé de dextrane de formule générale $DMC_aB_bSu_c$,

5 dans laquelle :

D représente une chaîne polysaccharidique, de préférence constituée par des enchainements d'unités glucosidiques,

MC représente des groupes méthylcarboxylates,

B représente des groupes carboxyméthylbenzylamides,

10 Su représente des groupes sulfates (sulfatation des fonctions hydroxyles libres portées par les unités glucosidiques),

a, b et c représentent le degré de substitution (ds), exprimé par rapport au nombre de fonctions hydroxyles libres dans une unité glucosidique du dextrane, respectivement en groupements MC, B et Su ; a étant $\geq 0,6$, b étant $\geq 0,1$

15 et c étant égal à 0 ou compris, de façon large, entre 0,1 et 0,5,

lesquels produits présentent une homogénéité de la distribution des tailles de chaînes, illustrée par un profil d'élution de type gaussien symétrique en chromatographie d'exclusion stérique haute performance, et une homogénéité de la distribution des groupements chimiques chargés, illustrée par un profil d'élution à un

20 seul pic symétrique en chromatographie d'échange d'ions basse pression,

(2) ainsi qu'au moins un excipient acceptable du point de vue pharmaceutique,

ledit dérivé de dextrane étant présent à une dose unitaire comprise entre 0,1 et 50 mg.

25 2°) Composition pharmaceutique selon la revendication 1, caractérisée en ce que le dérivé de dextrane est tel que c est non nul.

3°) Composition pharmaceutique selon la revendication 1 ou la revendication 2 à action sur la cicatrisation de la muqueuse gastrique.

4°) Composition pharmaceutique selon la revendication 3, caractérisée en ce que la dose unitaire dudit dérivé de dextrane est comprise entre 1,5 et 10 mg.

5°) Composition pharmaceutique selon la revendication 3 ou la revendication 4, caractérisée en ce qu'elle se présente sous la forme d'un gel, d'un pansement gastrique, d'un sirop ou d'une solution buvable.

35 6°) Composition pharmaceutique selon la revendication 1 ou la revendication 2 à action sur la cicatrisation musculaire.

2794976

20

7°) Composition pharmaceutique selon la revendication 6, caractérisée en ce que la dose unitaire dudit dérivé de dextrane est comprise entre 0,5 et 50 mg.

8°) Composition pharmaceutique selon la revendication 6 ou la revendication 7, caractérisée en ce qu'elle se présente sous la forme d'un gel, d'une pommade ou d'une solution isotonique.

9°) Composition pharmaceutique selon la revendication 1 ou la revendication 2 à action sur la cicatrisation oculaire.

10°) Composition pharmaceutique selon la revendication 9, caractérisée en ce que la dose unitaire dudit dérivé de dextrane est comprise entre 0,1 et 10 mg.

11°) Composition pharmaceutique selon la revendication 9 ou la revendication 10, caractérisée en ce qu'elle se présente sous la forme d'un collyre ou d'une pommade ophtalmique.

12°) Composition pharmaceutique à action sur la cicatrisation cutanée, adaptée à une administration par la voie topique, comprenant :

(1) au moins un dérivé de dextrane de formule générale $DMC_xB_ySu_z$, dans laquelle :

D représente une chaîne polysaccharidique, de préférence constituée par des enchaînements d'unités glucosidiques,

MC représente des groupes méthylcarboxylates,

B représente des groupes carboxyméthylbenzylamides,

Su représente des groupes sulfates (sulfatation des fonctions hydroxyles libres portées par les unités glucosidiques),

a, b et g représentent le degré de substitution (ds), exprimé par rapport au nombre de fonctions hydroxyles libres dans une unité glucosidique du dextrane, respectivement en groupements MC, B et Su ; a étant $\geq 0,6$, b étant $\geq 0,1$ et g étant égal à 0 ou compris, de façon large, entre 0,1 et 0,5,

lesquels produits présentent une homogénéité de la distribution des tailles de chaînes, illustrée par un profil d'élution de type gaussien symétrique en chromatographie d'exclusion stérique haute performance, et une homogénéité de la distribution des groupements chimiques chargés, illustrée par un profil d'élution à un seul pic symétrique en chromatographie d'échange d'ions basse pression,

(2) ainsi qu'au moins un excipient acceptable du point de vue pharmaceutique,

2794976

21

ledit dérivé de dextrane étant présent à une concentration inférieure à 1 % (en poids/volume).

13°) Composition pharmaceutique selon la revendication 12, caractérisée en ce que le dérivé de dextrane est tel que g est non nul.

5 14°) Composition pharmaceutique selon la revendication 14, caractérisée en ce qu'elle se présente sous la forme d'une pâte, d'une pommade, d'un liquide aqueux, d'un liquide huileux, d'un gel aqueux, d'un gel huileux, d'un aérosol, d'une mousse, d'une microémulsion, d'une émulsion multiple, de liposomes ou de nanoparticules.

10 15°) Composition pharmaceutique à action anti-complémentaire comprenant :

(1) au moins un dérivé de dextrane de formule générale $DMC_xB_ySu_z$, dans laquelle :

15 D représente une chaîne polysaccharidique, de préférence constituée par des enchaînements d'unités glucosidiques,

MC représente des groupes méthylcarboxylates,

B représente des groupes carboxyméthylbenzylamides,

Su représente des groupes sulfates (sulfatation des fonctions hydroxyles libres portées par les unités glucosidiques),

20 a , b et c représentent le degré de substitution (ds), exprimé par rapport au nombre de fonctions hydroxyles libres dans une unité glucosidique du dextrane, respectivement en groupements MC, B et Su ; a étant $\geq 0,3$, b étant $\geq 0,1$ et c étant égal à 0 ou compris, de façon large, entre 0,1 et 0,4,

25 lesquels produits présentent une homogénéité de la distribution des tailles de chaînes, illustrée par un profil d'élution de type gaussien symétrique en chromatographie d'exclusion stérique haute performance, et une homogénéité de la distribution des groupements chimiques chargés, illustrée par un profil d'élution à un seul pic symétrique en chromatographie d'échange d'ions basse pression,

30 (2) ainsi qu'au moins un excipient acceptable du point de vue pharmaceutique,

ledit dérivé de dextrane étant présent à une dose unitaire comprise entre 5 et 30 mg.

16°) Composition pharmaceutique selon la revendication 15, caractérisée en ce que le dérivé de dextrane est tel que g est non nul.

2794976

22

17°) Composition pharmaceutique selon la revendication 15 ou la revendication 16, caractérisée en ce qu'elle se présente sous la forme d'une solution isotonique.

18°) Pansement, caractérisé en ce qu'il est imbibé de la composition pharmaceutique selon l'une quelconque des revendications 12 à 14.

2794976

1/2

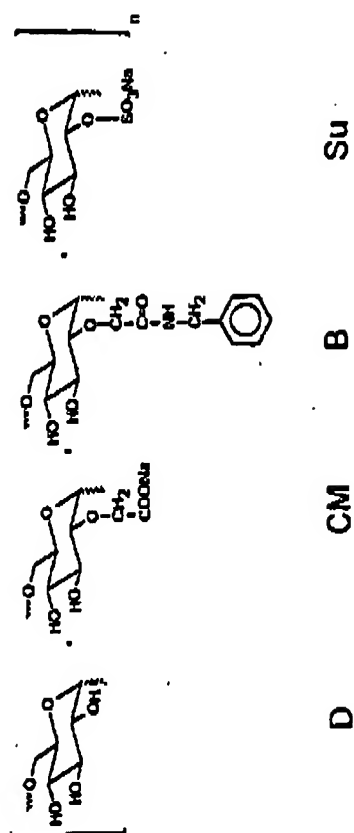
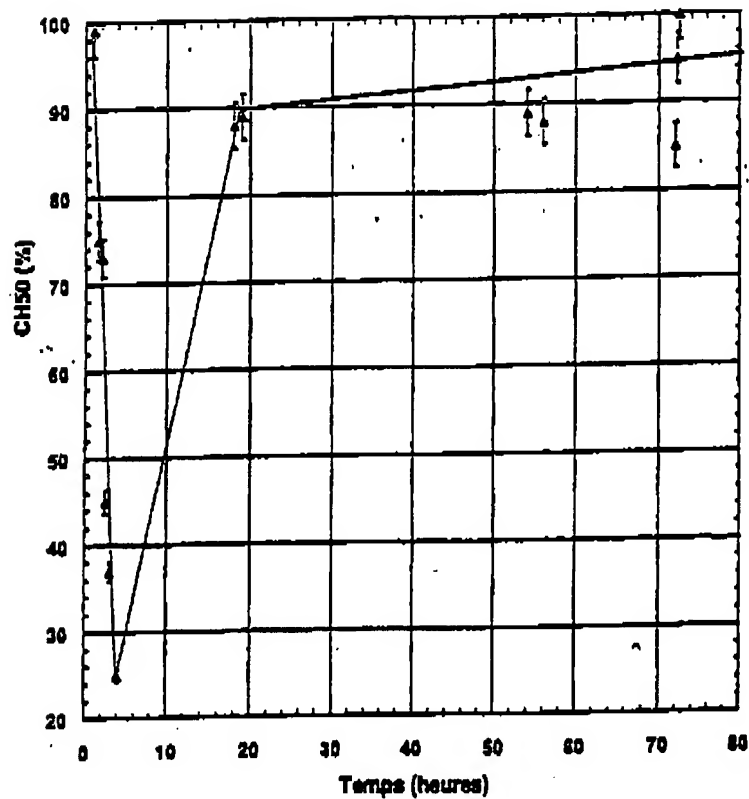


FIGURE 1

2/2

2794976

FIGURE 2

REPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL
de la
PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLERAPPORT DE RECHERCHE
PRELIMINAIREétabli sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

2794976

N° d'enregistrement
nationalFA 572787
FR 9907636

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
X	FR 2 651 436 A (SANOFI SA) 8 mars 1991 (1991-03-08) * abrégé; exemples A-E * * page 1, ligne 14-21; revendications 1-14; exemples 1-3 * * page 4, ligne 2 - page 7, ligne 34 * * page 9, ligne 24 - page 11, ligne 34; revendications 1-8; exemples 2-6 *	1,3-12, 14,15,17
X	FR 2 555 589 A (CHOAY SA) 31 mai 1985 (1985-05-31) * abrégé * * page 1, ligne 31 - page 2, ligne 30; revendications 1-7 *	1,3-12, 14,15,17
X	WO 90 10456 A (THERAPEUTIQUES SUBSTITUTIVES) 20 septembre 1990 (1990-09-20) * abrégé * * page 1, ligne 14-21; revendications 1-14; exemples 1-3, A-E *	1,3-12, 14,15,17
P, X	WO 99 29734 A (JOZEFOWICZ MARCEL ; SOLUTIONS (FR); CORREIA JOSE (FR); DAHRI LATIFA) 17 juin 1999 (1999-06-17) * abrégé; revendications 1-14; exemples 1-9; tableau 1 *	1-17
X	WO 95 26736 A (UNIV PARIS VAL DE MARNE ; BARRITAUZ DENIS (FR); CARUELLE JEAN PIER) 12 octobre 1995 (1995-10-12) * abrégé * * revendications 1-15; exemples 1,4,5; tableaux 1,7,8 *	1,3-12, 14,15,17

-/-		
Date d'achèvement de la recherche		Examinateur
21 février 2000		A. Jakobs
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES		
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'endroit d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire		T : liée au principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : citée dans la demande L : citée pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant

1

EPO FORM 1503 03 02 (PUB.13)

REPUBLIQUE FRANÇAISE

2794976

INSTITUT NATIONAL
de la
PROPRIETE INDUSTRIELLE

**RAPPORT DE RECHERCHE
PRELIMINAIRE**

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement
national

FA 572787
FR 9907636

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinateur
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
X	MAUZAC, M. ET AL: "Anticoagulant activity of dextran derivatives. Part I: synthesis and characterization" BIOMATERIALS (GUILDFORD, ENGL.) (1984), 5(5), 301-4, XP000876841 * abrégé; figures 1,3,4; tableau 1 *	1,3-12, 14,15,17
X	GAUTRON ET AL: "Injection of a dextran derivatives in adult rat skeletal muscle accelerates its regeneration" COMPTES RENDUS DES SEANCES DE L'ACADEMIE DES SCIENCES. SERIE III: SCIENCES DE LA VIE, NL, ELSEVIER, AMSTERDAM, vol. 318, no. 6, 1995, pages 671-676, XP002098424 ISSN: 0764-4469 * abrégé *	1,3-12, 14,15,17
X	MEDDAHI ET AL: "New approaches to tissue regeneration and repair" PATHOLOGY RESEARCH AND PRACTICE, DE, GUSTAV FISCHER, STUTTGART, vol. 190, no. 9/10, 1994, pages 923-928, XP002098415 ISSN: 0344-0338 * abrégé; figure 1 * * page 925, colonne 1, alinéa 8 - colonne 2, alinéa 4 *	1,3-15, 17
X	BLANQUAERT ET AL: "Les CMDBS analogues fonctionnels des heparanes sulfates, utilisés comme agents de la cicatrisation osseuse" ANNALES D'ENDOCRINOLOGIE, FR, MASSON, PARIS, vol. 55, no. 2, 1994, pages 121-123-123, XP002100532 ISSN: 0003-4266 * abrégé *	1,3-12, 14,15,17
Date d'achèvement de la recherche		Examineur
21 février 2000		A. Jakobs
<p>CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITES</p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intermédiaire</p> <p>T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant</p>		

1

EPO FORM 1533 (03.02) (precl17)